

[19]中华人民共和国国家知识产权局

Int. Cl⁷

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98805397.7

C07D493/04
C07D493/14 A61K 31/34
//(C07D493/04,30
7:00,303:00)
(C07D493/14,307:
00,307:00,303:00)

[43]公开日 2000年6月21日

[11]公开号 CN 1257507A

[22]申请日 1998.4.27 [21]申请号 98805397.7

[30]优先权

[32]1997.5.23 [33]US [31]08/862,488

[86]国际申请 PCT/US98/08470 1998.4.27

[87]国际公布 WO98/52951 英 1998.11.26

[85]进入国家阶段日期 1999.11.23

[71]申请人 赫斯特·马里昂·罗素公司

地址 美国俄亥俄州

[72]发明人 迈克尔·J·荣格

马欣达·维克协马拉特纳

迈克尔·亥普尔利

[74]专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

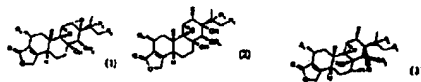
代理人 甘 玲

权利要求书 11 页 说明书 41 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 适合用于自身免疫性疾病治疗的新的雷公藤内酯衍生物

[57]摘要

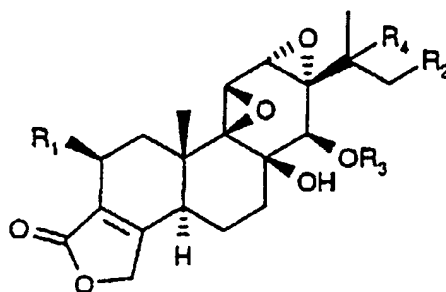
本发明涉及式(1)-(3)的新雷公藤内酯衍生物,本发明还涉及治疗自身免疫疾病患者的方法,该方法包括给患者施用有效量的新雷公藤内酯衍生物。



ISSN 1008-4274

权利要求书

1、一种下式的化合物:



其中

R₁ 和 R₂ 各自独立地是 H 或 -OR₅;

R₃ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

R₄ 是 H 或 -OH;

R₅ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是当 R₃ 不是 H 时 R₁ 和 R₂ 是 H。

2、权利要求 1 的化合物, 其中 R₁ 是 -OR₅。

3、权利要求 1 的化合物, 其中 R₂ 是 -OR₅。

4、权利要求 2 或 3 的化合物, 其中 R₅ 是 H。

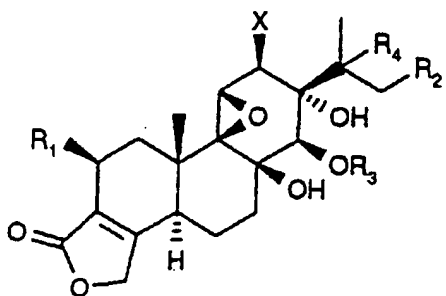
5、权利要求 1 的化合物, 其中 R₄ 是 -OH。

6、权利要求 1 的化合物, 其中 R₃ 是 -C(=O)(CH₂)_nCO₂H。

7、权利要求 6 的化合物, 其中 n 是整数 3。

8、权利要求 1 的化合物, 其中 R₁ 是 H, R₂ 是 H, R₃ 是 H 且 R₄ 是 H。

9、一种下式的化合物:



其中

X 是 I、Br、Cl、F 或-CN;

R₁ 和 R₂ 各自独立地是 H 或-OR₅;

R₃ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

R₄ 是 H 或-OH;

R₅ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是当 R₃ 不是 H 时 R₁ 和 R₂ 是 H。

10、权利要求 9 的化合物, 其中 R₁ 是-OR₅。

11、权利要求 9 的化合物, 其中 R₂ 是-OR₅。

12、权利要求 10 或 11 的化合物, 其中 R₅ 是 H。

13、权利要求 12 的化合物, 其中 X 是 Cl。

14、权利要求 9 的化合物, 其中 X 是 Cl。

15、权利要求 9 的化合物, 其中 X 是 Br。

16、权利要求 9 的化合物, 其中 R₄ 是-OH。

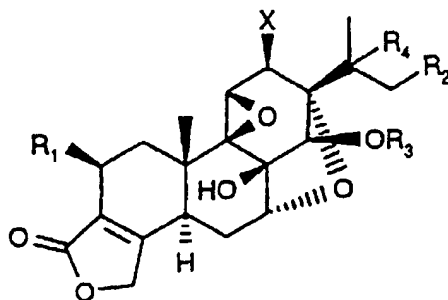
17、权利要求 9 的化合物, 其中 R₃ 是-C(=O)(CH₂)_nCO₂H。

18、权利要求 17 的化合物, 其中 n 是整数 3。

19、权利要求 18 的化合物, 其中 X 是 Cl。

20、权利要求 9 的化合物, 其中 R₁ 是 H, R₂ 是 H, R₃ 是 H、R₄ 是 H 且 X 是 Cl。

21、一种下式的化合物:



其中

X 是 I、Br、Cl、F 或-CN;

R₁ 和 R₂ 各自独立地是 H 或-OR₅;

R₃ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

R₄ 是 H 或-OH;

R₅ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是当 R₃ 不是 H 时 R₁ 和 R₂ 是 H。

22、权利要求 21 的化合物, 其中 R₁ 是-OR₅。

23、权利要求 21 的化合物, 其中 R₂ 是-OR₅。

24、权利要求 22 或 23 的化合物, 其中 R₅ 是 H。

25、权利要求 24 的化合物, 其中 X 是 Cl。

26、权利要求 21 的化合物, 其中 X 是 Cl。

27、权利要求 21 的化合物, 其中 X 是 Br。

28、权利要求 21 的化合物, 其中 R₄ 是-OH。

29、权利要求 21 的化合物, 其中 R₃ 是-C(=O)(CH₂)_nCO₂H。

30、权利要求 29 的化合物, 其中 n 是整数 3。

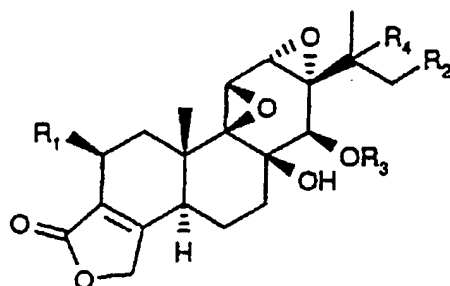
31、权利要求 30 的化合物, 其中 X 是 Cl。

32、权利要求 21 的化合物, 其中 R₁ 是 H, R₂ 是 H, R₃ 是 H、R₄ 是

H 且 X 是 Cl。

33、权利要求 21 的化合物，其中 R_1 是 H， R_2 是 H， R_3 是 H、 R_4 是 H 且 X 是 Br。

34、一种治疗自身免疫疾病患者的方法，包括给所说的患者施用有效量的下式的化合物：



其中

R₁ 和 R₂ 各自独立地是 H 或 -OR₅；

R₃ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸；

R₄ 是 H 或 -OH；

R₅ 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸；

n 是整数 2、3、4、5 或 6；

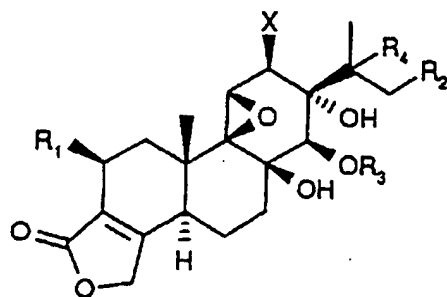
及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐；

其前提条件是当 R₃ 不是 H 时 R₁ 和 R₂ 是 H。

35、权利要求 34 的方法，其中自身免疫疾病是类风湿性关节炎。

36、权利要求 35 的方法，其中 R₁ 是 H，R₂ 是 H，R₃ 是 H 且 R₄ 是 H。

37、一种治疗自身免疫疾病患者的方法，包括给所说的患者施用有效量的下式的化合物：



其中

X 是 I、Br、Cl、F 或-CN;

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或-OR₅;

R_3 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

R_4 是 H 或-OH;

R_5 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

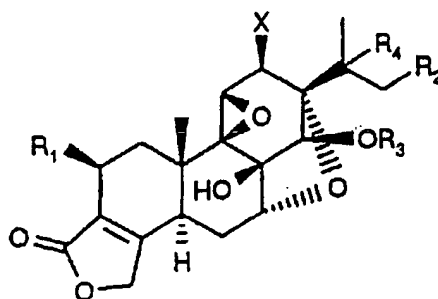
及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H。

38、权利要求 37 的方法, 其中所说的自身免疫疾病是类风湿性关节炎。

39、权利要求 38 的化合物, 其中 R_1 是 H, R_2 是 H, R_3 是 H、 R_4 是 H 且 X 是 Cl。

40、一种治疗自身免疫疾病患者的方法, 包括给所说的患者施用有效量的下式的化合物:



其中

X 是 I、Br、Cl、F 或-CN;

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或-OR₅;

R_3 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

R_4 是 H 或-OH;

R_5 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H。

41、权利要求 39 的方法, 其中所说的自身免疫疾病是类风湿性关节炎。

42、权利要求 40 的化合物, 其中 R_1 是 H, R_2 是 H, R_3 是 H、 R_4 是 H 且 X 是 Cl。

43、权利要求 40 的化合物, 其中 R_1 是 H, R_2 是 H, R_3 是 H、 R_4 是 H 且 X 是 Br。

适合用于自身免疫性疾病治疗的新的雷公藤内酯衍生物

背景技术

五千万人以上的美国人受到自身免疫疾病和炎性疾病的影响。经过以前十年到十五年在分子和细胞免疫学方面的基础研究, 诊断、治疗和预防这些免疫性疾病的方法在不断的变化。通过解剖免疫系统的个体组成, 已经并且需要继续阐明对免疫应答的启动和发展起决定性的细胞、受体和介质。对在主要组织相容性复合体中编码的蛋白质的结晶分析、抗原-特异性 T 细胞受体的鉴定、以及关于复合细胞素网络基本了解的发展, 对免疫学的变革产生了影响。各种免疫抑制剂被证实在防止移植排斥和在治疗诸如类风湿性关节炎、肾炎、眼色素层炎、甲状腺炎、早期胰岛素依赖性糖尿病、全身性红斑狼疮、牛皮癣、和炎性肠病的自身免疫疾病中是有用的。

当免疫系统正常运转时, 涉及精确的功能, 例如对外源物质(化学和细胞抗原)的识别和记忆, 以及特异地应答并清除这些外源物质, 这些外源物质穿透皮肤和粘膜表面的保护性身体屏障(移植的组织和诸如细菌、病毒和寄生虫的微生物)或者是自身产生的(恶性变形)。免疫应答的兵工厂由与巨噬细胞协作的两种主要类型的淋巴细胞组成, 这两种淋巴细胞是 B-淋巴细胞(B 细胞, 负责产生攻击入侵微生物的抗体)或 T-淋巴细胞(T 细胞, 负责消除被感染的或异常的靶向细胞)。免疫系统中主要事件的级联由 I.Roitt, J.Brostoff 和 D.Male 的“免疫学”第 3 版(Mosby, 1993)作较完整的描述, 这里引入作为参考, 并且可作如下的总结:

抗原与巨噬细胞和 B 细胞上的表面抗体相互作用来启动应答。巨噬细胞摄入并处理抗原。活性巨噬细胞分泌白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子(TNF), 并且在细胞表面提呈被处理的抗原以及主要的抗组织相容性抗

原。IL-1 和 TNF 都启动涉及炎症的数个过程。而且, IL-1 诱发 B 细胞的增殖和抗体的合成。但更重要的是, IL-1 激活 T 细胞, 由 T 细胞释放一系列激活 T 细胞和细胞毒素淋巴细胞增殖的淋巴因子, 包括白介素-2(IL-2)。在自身免疫疾病中, 系统不能区别“非自身”抗原和“自身”抗原, 并会开始产生攻击体内正常组成的自身抗体自反应性 T 细胞。

免疫应答级联的各个因素可以被认为是药理学介入的潜在位置。例如, 肾上腺皮质激素(adrenocorticosteroids)在免疫应答的第一个阶段发生作用、与巨噬细胞相互作用并且抑制 IL-1 的合成和释放。已经发现治疗自身免疫疾病用的其它免疫抑制剂, 例如治疗类风湿性关节炎的硫唑嘌呤和甲氨蝶呤、治疗免疫源肾病的环磷酰胺和治疗类风湿性关节炎、眼色素层炎、早期胰岛素依赖性糖尿病、牛皮癣、肾炎并发症和再生障碍性贫血的环孢菌素。

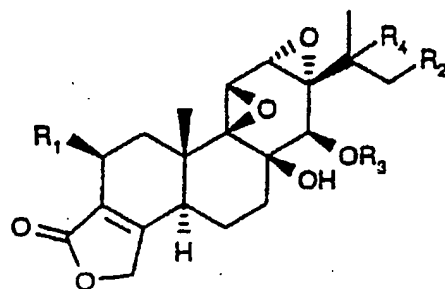
此外, 免疫抑制剂被证实对预防和治疗同种异体移植中可能发生的器官移植排斥是有用的。在同种异体移植中, 一个人向基因全异的个体捐献器官, 而在异种移植中一个种的器官被移植到另一个种中。在这些病例中, 使用环孢菌素可实际改善接受器官的病人的症状。然而, 可获得的免疫抑制性药物的治疗指数并不高, 没有一种药物是完全有效的, 并且它们的使用受到其严重毒性的限制。

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook F)是一种主要生长在中国南部的卫矛科(Celastraceae family)草药植物, 据发现雷公藤的各种提取物和提取物成分作为免疫抑制剂是有效的。Zhang 等, 上海医科大学学报 13(4), 267(1986)表征了雷公藤中包含至少六种不同的双萜类, 包括雷公藤鞣内酯、雷公藤内酯、雷酚内酯(triptophenolide)和雷酚酮内酯(triptonolide)。更具体说, P. E. Lipsky 等在 WO91/13627 中(1991.9.19 公开)公开了雷公藤的提取物或提取物成分对抑制自身免疫疾病如类风湿性关节炎、全身性红斑狼疮和牛皮癣是有效的。Yang 等, *Int. J. Immunopharmac.* 14, 963 (1992)和 Yang 等 *Int. J. Immunopharmac.* 16, 895(1994)报导了雷公藤内酯

抑制淋巴细胞增殖和皮肤同种异体移植排斥。另外, Jin 和 Wiedmann 在 WO94/26265 中(1994.11.24 公开)公开了将其中附加有雷公藤成分(纯化的 16-羟基雷公藤内酯)的组合物与其它免疫抑制剂如环孢菌素 A、FK506、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、雷帕霉素(rapamycin)、霉酚酸、或糖皮质激素一起给药。据公开, 与单独使用 16-羟基雷公藤内酯或其它免疫抑制剂所产生的效果的总和相比, 上述组合物可提供增强的免疫抑制活性。这使得在免疫抑制治疗中具有了较大的免疫抑制活性, 同时降低了毒性, 例如在移植排斥和自身免疫疾病的治疗中。P. E. Lipsky 等在 US 专利 5,580,562 (1996.12.3 公开)中公开了一种雷公藤制剂, 该制剂具有改进的小鼠 LD50、提高的治疗活性与毒性指数比、以及与以前的制剂相比降低量的雷公藤内酯。

发明概述

本发明涉及下式(I)的新化合物:



式(I)

其中

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或 $-OR_5$;

R_3 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸;

R_4 是 H 或 $-OH$;

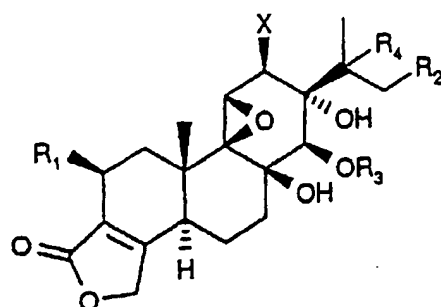
R_5 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是，当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H。

本发明还涉及下式(II)的新化合物：



式(II)

其中

X 是 I、Br、Cl、F 或 -CN；

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或 -OR₅；

R_3 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸；

R_4 是 H 或 -OH；

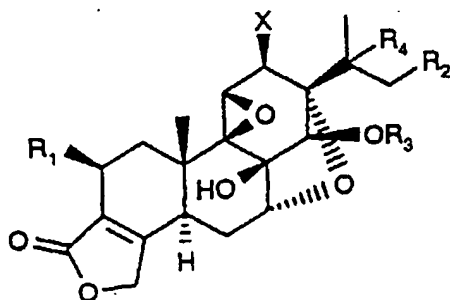
R_5 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸；

n 是整数 2、3、4、5 或 6；

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐；

其前提条件是当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H。

另外，本发明还涉及下式(III)的新化合物：



式(III)

其中

X 是 I、Br、Cl、F 或 -CN；

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或 -OR₅；

R_3 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸；

R_4 是 H 或 $-OH$ ；

R_5 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸；

n 是整数 2、3、4、5 或 6；

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐；

其前提条件是当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H。

本发明还提供制备式(I)、(II)和(III)化合物用的新中间体。此外，本发明提供一种对自身免疫性疾病的患者进行治疗的方法，该方法包括给患者施用有效量的式(I)、(II)或(III)化合物。

发明详细描述

术语“立体异构体”是单个分子仅其原子的空间取向不同的所有异构体之总称。它包括几何异构(顺式/反式)，和具有彼此非镜像的一个以上手性中心的化合物的异构体(非对映异构体)。术语“手性中心”是指连接有四个不同基团的碳原子。术语“对映异构体”或“对映体”是指其镜像非重叠并因此具有旋光性的分子，其中对映异构体旋转了一个方向的偏振光平面且其镜像旋转了相反方向的偏振光平面。术语“外消旋混合物”或“外消旋变体”是指对映异构体相份的混合物且是非旋光性的。如这里所用的，使用前缀(+)和(-)来表示化合物的偏振光平面旋转符号，(+)意指化合物是右旋的且(-)意指化合物是左旋的。对氨基酸来说，可以按照 IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, Eur. J. Biochem, 138:9-37(1984)中的描述使用符号 L/D 或 R/S。

术语“药学上可接受的盐”是指式(I)、(II)或(III)所示碱性化合物、或其任何中间体的非毒性有机或无机酸加成盐。形成适宜盐的无机酸的一些实例包括盐酸、氢溴酸、硫酸和磷酸以及酸式金属盐如磷酸一氢钠和硫酸氢钾。形成适宜盐的示例性有机酸包括一元、二元和三元羧酸。这种酸的实例是乙酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、戊二

酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、马来酸、羟基马来酸、苯甲酸、羟基苯甲酸、苯乙酸、肉桂酸、水杨酸、2-苯氧基苯甲酸、对甲苯磺酸，和，磺酸、如甲磺酸和 2-羟基乙磺酸。这种盐可以水合物的形式存在也可以是基本上无水的形式存在。

术语“对映体富集”指一种对映异构体相比其对应的对立对映异构体的量增加。表达所达到的对映体富集的常规方法是“对映体过量”或“ee”的概念，该概念由以下等式表达：

$$ee = \frac{E^1 - E^2}{E^1 + E^2} \times 100$$

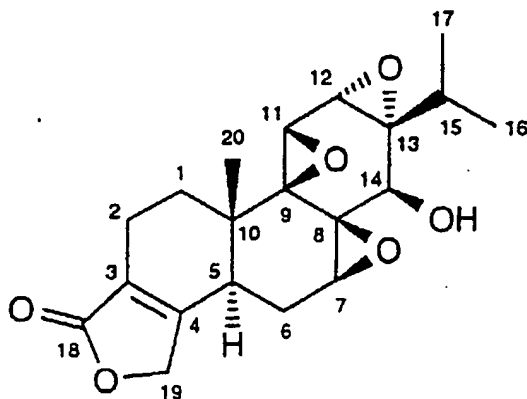
其中 E^1 是第一种对映异构体的量而 E^2 是第二种对应的对映异构体的量。例如，当一个反应中两种对应异构体的起始比为 50:50(外消旋混合物)，且反应产生了最终比例为 90:10 的对应异构体富集，则就第一种对应异构体而言，其 ee 为 80%。

符号“**——**”指向页面的前方突出的键。

符号“**.....**”指向页面的后方突出的键。

符号“**wavy**”这里指单键或双键。

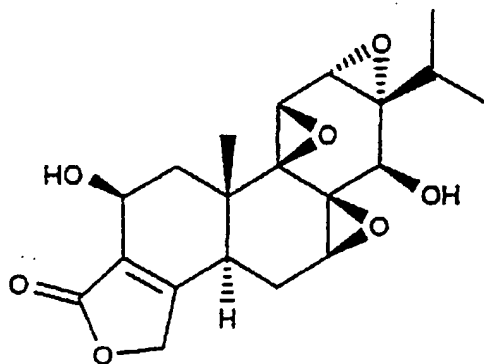
现有文献中公开的雷公藤内酯的编号方式体系如下：



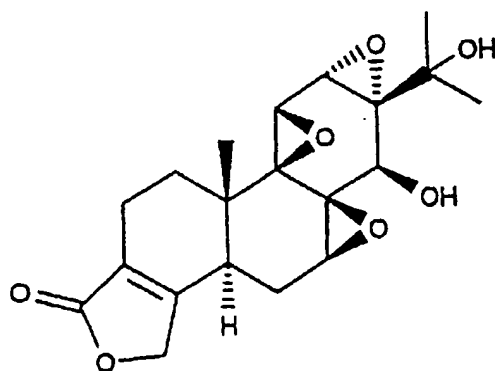
本领域普通技术人员可了解雷公藤内酯的修饰可以造成上述编号体系的变化。其旋光体形式和外消旋形式的雷公藤内酯是本领域技术人员容易得到的。从天然来源的雷公藤中按照 S. M. Kupchan 等, *J. Am. Chem.*

Soc, 94, 7194 (1972)的工艺可以分离出旋光体形式的雷公藤内酯。或者, 按照 Chee Kong Lai 等, *J. Org. Chem.*, 47, 2364-2369(1982)、van Tamelen 和 Leiden, *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 1785 (1982)或 Garver 和 van Tamelen, *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 867 (1982)的总合成方法可以制备外消旋形式的雷公藤内酯。通过 Kutney 和 Han, *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, 115(01)77(1996)、Deng Fu-xiao 等中国植物学学报(*Acta Botanica Sinica*), 34(8), 618(1992)、C. P. Zhang, 中国药理学学报(*Acta Pharmaceutica Sinica*), 28(2), 110(1993)以及 Jin 和 Wiedmann 的 WO94/26265(1994.11.24 公开)的描述可以获得其它起始原料。

这里所说的“雷公藤内酯”或“2-羟基雷公藤内酯”是相同的, 并且具有以下结构:



这里所说的“雷醇内酯(Triptolidenol)”和“15-羟基雷公藤内酯”是相同的, 并且具有以下结构:



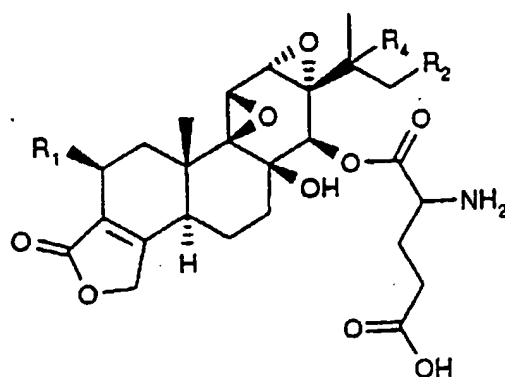
The chemical structure is a complex steroid derivative, likely a triterpene. It features a pentacyclic core with a furanone ring fused to the A-ring. The structure includes several stereocenters indicated by wedges and dashes, and multiple hydroxyl groups. A side chain with a terminal hydroxyl group is attached to the D-ring.

除非另有说明，本发明化合物中使用的 α -氨基酸优选是其 L-构型；然而，申请人所指这里所用的氨基酸既可以是 D-构型也可以是 L-构型，或者可以是 D-和 L-异构体的混合物，包括外消旋混合物。 α -氨基酸的公认简写列于表 1 中。

表 I

氨基酸	代号
丙氨酸	Ala 或 A
精氨酸	Arg 或 R
天冬酰胺	Asn 或 N
天冬氨酸	Asp 或 D
半胱氨酸	Cys 或 C
谷酰胺	Gln 或 Q
谷氨酸	Glu 或 E
甘氨酸	Gly 或 G
组氨酸	His 或 H
异亮氨酸	Ile 或 I
亮氨酸	Leu 或 L
赖氨酸	Lys 或 K
蛋氨酸	Met 或 M
苯丙氨酸	Phe 或 F
脯氨酸	Pro 或 P
丝氨酸	Ser 或 S
苏氨酸	Thr 或 T
色氨酸	Trp 或 W
酪氨酸	Tyr 或 Y
缬氨酸	Val 或 V

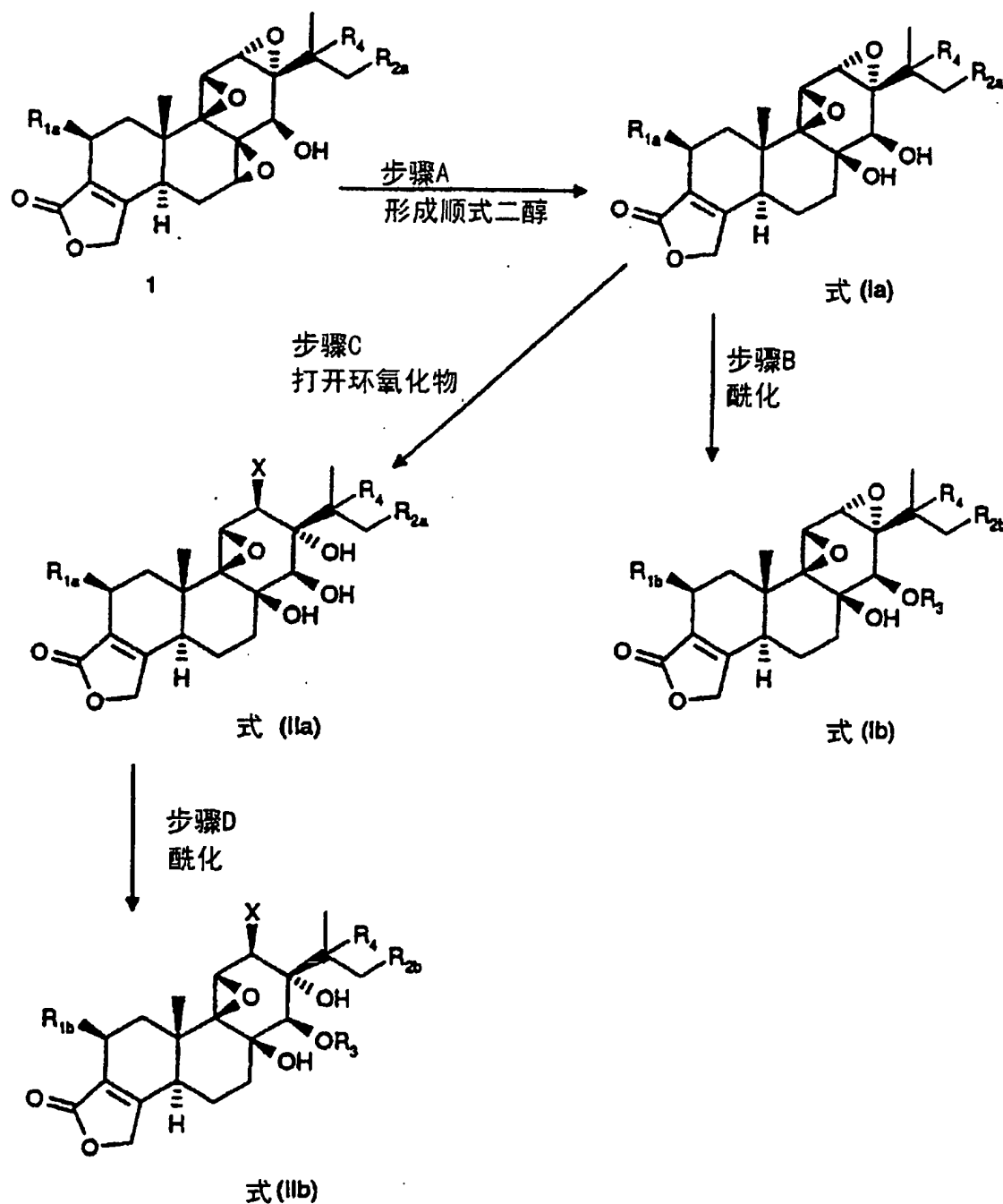
这里所说的“适宜的氨基酸”是指列于上表 I 中的氨基酸。适宜的氨基酸通过氨基酸的羧基末端与式(I)、(II)或(III)的化合物连接, 形成酯键合。例如, 将谷氨酸的-OH 加在式(I)的 14 位上, 得到具有以下结构的化合物:



优选适宜的氨基酸是 Ala、Gln、Lys、Arg 和 Phe，最优选 Ala、Gln 和 Lys。

式(I)和(II)的化合物可以按照方案 A 的所述进行制备。除非另有说明，所有取代基均按上述定义。其试剂和起始原料可为本领域技术人员容易获得。

方案 A



在方案 A 的步骤 A 中,让结构(1)的化合物经过顺式二醇形成条件的处理,产生式(Ia)的化合物,其中 R_{1a} 和 R_{2a} 各自独立地是氢或-OH。例如,室温下,将结构(1)的化合物如雷公藤内酯在惰性环境如氮气的条件下溶解于适宜的无水有机溶剂如四氢呋喃中。用约 1-约 6 当量的氰基氢硼化钠处理溶液,接着逐滴加入约 1.2 当量的纯三氟化硼合二乙醚

($\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$)。将反应混合物搅拌约 1-约 24 小时，优选约 16 小时。然后通过加入含水氯化铵使反应结束，并且通过本领域已知的技术分离和纯化产品，例如通过提取技术和色谱法。

例如，用适宜的有机溶剂如二氯甲烷来提取结束的反应混合物。合并有机提取物、用盐水洗涤、通过无水硫酸镁干燥、过滤并且真空浓缩，得粗品。然后通过闪蒸色谱法在硅胶上用适宜的洗脱剂如甲醇/氯仿纯化粗品，得到纯化的式(Ia)化合物。

或者，式(Ia)的化合物可以通过以下方式制备，室温下将结构(1)的化合物在惰性环境如氮气条件下溶解于适宜的无水有机溶剂如四氢呋喃中。向其中加入约 1.9 当量的硼氢化锂，接着加入约 2.1 当量的纯三氟化硼合二乙醚。将反应混合物搅拌约 0.5-约 5 小时，优选约 1.5 小时。然后，仔细用 1N HCl 停止反应并且通过本领域公知技术分离和纯化产品，例如通过提取技术和色谱法。

例如，用适宜的有机溶剂如二氯甲烷来提取结束反应的混合物。合并有机提取物，用 1N 碳酸氢钠、盐水洗涤，通过无水硫酸镁干燥，过滤并且真空浓缩，得粗品。然后通过闪蒸色谱法在硅胶上用适宜的洗脱剂如乙酸乙酯/己烷纯化粗品，得到纯化的式(Ia)化合物。

在方案 A 的步骤 B 中，让式(Ia)的化合物经过本领域普通技术人员公知的标准酰化条件处理，得到式(Ib)的化合物。例如，总体按照 J. Swistok 等, *Tetrahedron Letters*, 30(38), 5054(1989)的工艺，将式(Ia)的化合物溶解于适宜的有机溶剂如二甲基甲酰胺中。然后用 1 当量适宜的环状酸酐如琥珀酸酐、1 当量 4-二甲氨基吡啶(DMAP)和约 1.6 当量的吡啶处理溶液。室温下将反应物搅拌约 12 小时，然后真空浓缩。通过本领域公知的技术分离和纯化式(Ib)的化合物，例如通过提取技术和色谱法。例如，将残余物溶解于适宜的有机溶剂如二氯甲烷中，用水、盐水洗涤，通过无水硫酸镁干燥，过滤并且真空浓缩，得粗品。然后通过闪蒸色谱法用适宜的洗脱剂如甲醇/氯仿在硅胶上纯化粗品，得到纯化的式(Ib)化

合物。

或者，可以将式(Ia)的化合物溶解于适宜的无水有机溶剂如吡啶中，然后用相应的适宜二元酸的适宜单酯的酰基氯处理。适宜二元酸的实例是琥珀酸、戊二酸、己二酸、庚二酸和辛二酸。二元酸的适宜单酯是最终在本领域公知的温和条件下被脱酯得到式(Ib)的酯。例如，用 1 当量丁二酸一叔丁酯或丁二酸一苄酯的酰基氯处理上述溶液，然后室温下搅拌约 2 小时。然后通过本领域公知的技术分离和纯化所得的酯。例如在真空条件下除去溶剂并且通过闪蒸色谱法在硅胶上用适宜洗脱剂如甲醇/氯仿纯化残余物，得到纯化的酯。然后通过本领域公知技术，如 T. W. Green “有机合成的保护基” (John Wiley & Sons Inc, 1981) P168-169 和 171-172 分别公开的叔丁酯的酸水解或苄酯的氢化，得到式(Ib)的粗品。然后，通过闪蒸色谱法在硅胶上用适宜洗脱剂如甲醇/氯仿纯化粗品并且，如果需要，进行混合物分离，得到纯化的式(Ib)化合物。

本领域普通技术人员容易领会到，当式(Ia)中的 R_{1a} 和/或 R_{2a} 是 -OH 时，则酰化化合物的混合物将导致上述过程的酰化可发生在 R_{1a} 、 R_{2a} 或 14 位的 -OH 处。还可以了解到可以通过本领域公知的技术如闪蒸色谱法或高效液相色谱法分离所得的混合物。本领域普通技术人员还将了解到其中所有伯醇和仲醇均被酰化了的式(Ib)的化合物，需要对每种式(Ia)的醇用至少 1.2 当量的试剂处理。例如，对式(Ia)化合物中存在的每一种伯醇和仲醇，必须要用至少 1.2 当量适宜的环状酸酐、至少 1.2 当量 DMAP 和至少 1.8 当量吡啶来处理式(Ia)的化合物。

另外，可以用经过适当保护的表 I 的氨基酸，在本领域公知的条件下酰化式(Ia)的化合物，接着将化合物的氨基酸部分脱保护，得到式(Ib)的化合物。例如，参见 P. Joulin 等 *Tetrahedron Letters*, 28(15), 1661 (1987)、D. Grenouillst 等 *Tetrahedron Letters*, 28(47), 5827(1987)、M. Uedal 等 *Synthesis*, 908(1983)和 E. Haslam, *Tetrahedron*, 36, 2409(1980)。

可以理解，偶联反应过程中构成氨基酸的官能团通常必须得到保

护, 以避免形成不期望的键。T. W. Greene “有机化学中的保护基” John Wiley & Sons, 纽约(1981)和“肽: 分析、合成、生物学”第3卷, Academic Press, 纽约 (1981)中公开了可用的保护基、保护基的形成以及去除, 其公开内容引入这里作为参考。

要偶联到伯醇和仲醇上的每个氨基酸的 α -氨基必须是被保护的。可以使用本领域已知的任何保护基。其实例包括: 1) 酰基型, 如甲酰基、三氟乙酰基、邻苯二酰基、和对甲苯磺酰基; 2) 芳族氨基甲酸酯型, 如苄氧基羰基(Cbz 或 Z)和取代的苄氧基羰基、1-(对-联苯)-1-甲基乙氧基-羰基、和 9-芴甲氧基羰基(Fmoc); 3) 脂族氨基甲酸酯型, 如叔丁氧羰基(Boc)、乙氧羰基、二异丙基甲氧羰基和烯丙氧基羰基; 4) 环状烷基氨基甲酸酯型, 如环戊基氧基羰基和金刚烷基氧基羰基; 5) 烷基型, 如三苯甲基和苄基; 6) 三烷基硅烷, 如三甲基硅烷; 和 7) 含硫型, 如苯硫基羰基和二硫杂琥珀酰基。优选 α -氨基保护基是 Boc 或 Fmoc, 优选 Boc。许多适宜保护的氨基酸衍生物可以通过商业途径获得。

然后, 在本领域公知条件下将所加到氨基酸残基的 α -氨基保护基脱掉, 得到式(Ib)的化合物。例如, 当使用 Boc 基团时, 选择的方法是如 Greene “有机合成中的保护基” John Wiley & Sons, 纽约(1981) 232-233 公开的纯的或溶于二氯甲烷的三氟乙酸, 或溶于二噁烷或乙酸乙酯的 HCl。

更具体说, 将式(Ia)化合物在惰性环境如氮气条件下溶解于适宜的无水有机溶剂中如二氯甲烷, 并且用过量的适宜保护的氨基酸和约 2 当量的二甲基氨基吡啶处理。适宜保护的氨基酸的实例是 N-(叔丁氧羰基)-L-丙氨酸、N-(叔丁氧羰基)-L-苯丙氨酸、N,N'-(二叔丁氧羰基)-赖氨酸、N-(叔丁基羰基)- ω -叔丁氧基谷氨酸酯等等。将溶液搅拌冷却至 0°C 并且用约 2 当量二环己基碳二亚胺处理。然后将反应物加温至室温并且搅拌约 3 小时。然后过滤反应物, 除去任何沉淀物, 并且真空浓缩滤液。将残余物溶解于适宜的有机溶剂如二氯甲烷中, 并且用 0.5N 含水 HCl、饱和碳酸

氢钠、盐水洗涤，通过无水硫酸镁干燥，过滤并真空浓缩。通过闪蒸色谱法在硅胶上用适宜洗脱剂如乙酸乙酯/己烷纯化残余物，得到 BOC-保护的式(Ib)化合物。

在本领域公知的条件下脱除 BOC 保护基。例如，将 BOC 保护的式(Ib)化合物溶解于适宜的有机溶剂如乙醚中，并且用 1N 三氟乙酸缓慢处理溶液。将反应物搅拌约 1 小时。然后过滤收集式(Ib)化合物的三氟乙酸盐，用乙醚洗涤并且干燥。式(Ib)化合物的游离碱可以通过将式(Ib)化合物的三氟乙酸盐溶解于水中并且用至少 1 当量碳酸钠处理来制备。然后用水、盐水洗涤有机提取物，通过无水硫酸镁干燥，过滤并且真空浓缩，得到式(Ib)化合物。

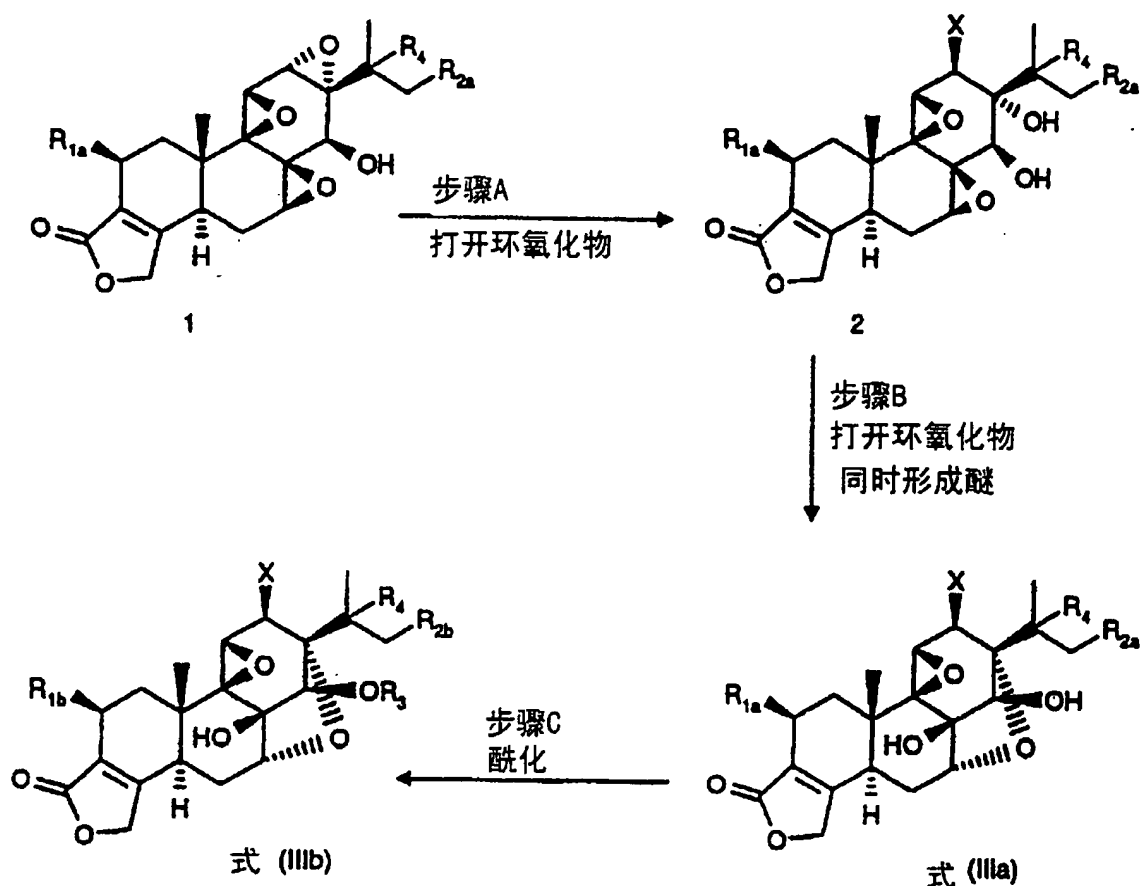
在方案 A 的步骤 C 中，将式(Ia) 的 12-13 环氧化物打开，得到式(IIa)的化合物。例如，将式(Ia)的化合物室温下溶解于适宜有机溶剂如二噁烷中，并且添加过量的适宜含水酸如 2N HCl 或 30% 含水 HBr。将反应物在约 23-约 70℃ 下搅拌约 1-约 24 小时，优选约 6 小时。然后通过本领域公知技术分离和纯化产品，例如通过提取技术和色谱法。

例如，用水稀释反应物并且用适宜有机溶剂如乙酸乙酯、二氯甲烷或氯仿提取。合并有机提取物，用盐水洗涤，通过无水硫酸镁干燥，过滤并且真空浓缩，得到式(IIa)的粗品。然后，通过闪蒸色谱法在硅胶上用适宜洗脱剂如甲醇/氯仿或己烷/二氯甲烷纯化粗品，得到纯化的式(IIa)化合物。

在方案 A 的步骤 D 中，按照以方案 A 步骤 B 所述过程的类似方式让式(IIa)的化合物经过标准酰化条件处理，得到式(IIb)化合物。

式(III)的化合物可以按照方案 B 进行制备。除非另有说明，所有取代基均如上定义。试剂和起始原料是本领域普通技术人员容易获得的。

方案 B



在方案 B 的步骤 A 中, 将结构(1)的化合物在打开环氧化物的条件下处理。例如, 将结构(1)的化合物溶解于适宜有机溶剂如丙酮或二噁烷中, 并且用适宜的含水酸如 2N HCl 或 30% HBr 处理。将反应物搅拌约 1-5 小时, 搅拌温度为 $X = Cl$ 时的约 $0^{\circ}C$ 到 $X = Br$ 时的约 $70^{\circ}C$ 。然后用水稀释反应物, 并且通过本领域公知技术如提取技术、色谱法和/或再结晶分离和纯化结构(2)的化合物。例如, 用适宜的有机溶剂如二氯甲烷或乙酸乙酯提取反应混合物。合并有机提取物, 用盐水漂洗, 通过硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩, 得到粗品(2)。然后通过从适宜的溶剂系统如己烷/二氯甲烷中再结晶纯化粗品, 得到纯化的结构(2)的化合物。

在方案 B 的步骤 B 中, 将结构(2)的化合物转化成式(IIIa)的醚, 其中

R_{1a} 和 R_{2a} 各自独立地是氢或-OH。例如，将化合物(2)和细粉状硫酸氢钾在适宜的无水有机溶剂如甲苯或二噁烷中合并。当 $X=Cl$ 时，可以用 0.1-1N 含水 HCl 取代硫酸氢钾，且优选的有机溶剂是二噁烷。然后在约 50-约 115°C、优选约 75°C 下加热反应混合物约 1-约 24 小时，优选约 5 小时。然后过滤反应物，例如通过硅藻土，并且将固体用适宜的有机溶剂如氯仿漂洗。然后真空浓缩滤液，得到式(IIIa)化合物的粗品。然后通过本领域公知技术纯化粗品，例如在硅胶上用适宜洗脱剂如甲醇/氯仿的色谱法，得到纯化的式(IIIa)化合物。

或者，可以如下将化合物(2)转化成式(IIIa)的化合物，室温下用适宜的路易斯酸如 BF_3 /醚合物、 $TiCl_4$ 或 $FeCl_3$ 在适宜的有机溶剂如二氯甲烷中将化合物(2)处理约 1-约 2 小时。然后以上述过程的类似方式分离和纯化式(IIIa)化合物。

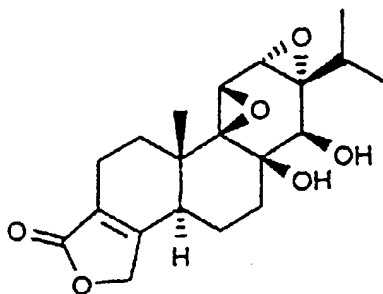
在方案 B 的步骤 C 中，以方案 A 步骤 B 中所述过程的类似方式酰化(IIIa)化合物，得到式(IIIb)化合物。

以下实施例将显示方案 A 和方案 B 所述的典型合成方法。这些实施例应当理解为仅是举例说明的方式，而没有任何限定本发明范围的意图。试剂和起始原料均为本领域普通技术人员容易得到的。这里用到的以下术语具有指定的含义："kg"指千克；"g"指克；"mg"指毫克；"μg"指微克；"m²/g"指每克平方米并用作颗粒表面积的测量；"mmol"指毫摩尔数；"L"指升；"mL"指毫升；"μL"指微升；"cm"指厘米；"M"指摩尔浓度；"mM"指毫摩尔浓度；"μM"指微摩尔浓度；"nM"指纳摩尔浓度；"eq"指当量；"N"指当量；"ppm"指百万分之一份；"δ"指四甲基硅烷低场的百万分之一；"°C"指摄氏温度；"°F"指华氏温度；"mm Hg"指汞毫米；"kPa"指千帕斯卡；"psi"指每平方英寸磅数；"rpm"指每分钟转数；"bp"指沸点；"mp"指熔点；"dec"指分解；"HPLC"指高效液相色谱；"h"指小时；"min"指分钟；"sec"指秒数；"i.p."指腹腔内；"p.o."指口服；"COMC"指羧甲基纤维素；"THF"指四氢呋喃；"DMF"指 N,N-二甲基甲酰胺；"DMSO"指

二甲基亚砜；"LAH"指氢化铝锂；"R_f"指保留指数；"R_t"指保留时间。

实施例 1

制备[5aR-(5a α ,6 α ,6a α ,7a α ,7b β ,8aS*,8b α)]-3,3b,4,5,5a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a,6-二羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1H-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-1-酮



方案 A, 步骤 A: 在氮气环境中, 室温下向搅拌的雷公藤内酯(360mg, 1mmol, 旋光性, 从天然源中分离)的无水 THF(10mL)溶液添加氰基氢硼化钠(360mg, 6mmol), 接着逐滴添加纯硼三氟化硼合二乙醚(150mL, 173mg, 1.2mmol)。所得溶液在室温下搅拌 16 小时。然后通过添加 1N 含水氯化铵(25mL)使反应停止, 并且用乙醚(3x25mL)提取。将合并的有机提取物用盐水 (25mL) 洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩, 得到白色固体。然后让该白色固体经过上述相同的反应条件和逐步过程的处理, 得到白色固体(290mg), 通过闪蒸色谱法(氯仿, 然后 0.5-1% 甲醇/氯仿)纯化, 得到标题化合物(160mg, 44%)。将标题化合物从甲醇中再结晶; mp 185-186°C 且 $[\alpha]_D = -32^\circ\text{C}$ (c=0.1, 氯仿)。

标题化合物的另一种制备

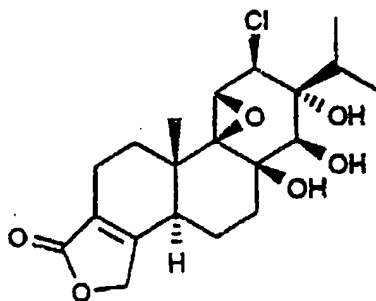
方案 A, 步骤 A: 在氮气环境中, 室温下向搅拌的雷公藤内酯(100mg)的无水 THF(30mL)溶液添加氢硼化锂(THF 中的 264mL 2N 溶液), 接着逐滴添加纯硼三氟化硼合二乙醚(72mL)。反应混合物被搅拌 90 分钟, 然

后仔细用 1N HCl(10mL)处理。再搅拌 10 分钟后, 用二氯甲烷(3x20mL)提取反应混合物。合并有机提取物, 用 1N 碳酸氢钠(2x20mL)、盐水洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。然后将残余物通过柱色谱法(20%乙酸乙酯/己烷)纯化, 得到标题化合物(76mg, 76%)。

实施例 2

制备[1*S*-(1 α , 2 β , 3 α , 3 β , 4*aR**, 4*b* α , 11 α)]-3-氯-

1, 2, 3, 3*a*, 4*b*, 5, 6, 9, 9*b*, 10, 11, 11*a*-十二氢-1, 2, 11*a*-三羟基-4*b*-甲基-2-(1-甲基乙基)-7*H*-环氧乙烯并[4*b*, 5]菲并[1, 2-*c*]呋喃-7-酮

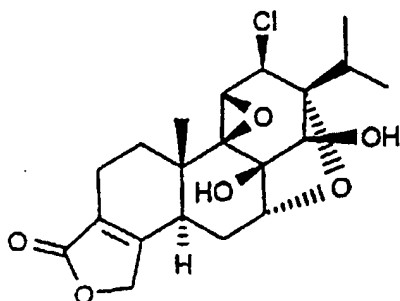


方案 A, 步骤 C: 室温下, 向搅拌的[5*aR*-(5 α , 6 α , 6 α , 7 α , 7 β , 8*aS**, 8*b* α)]-3, 3*b*, 4, 5, 5*a*, 6, 6*a*, 7*a*, 7*b*, 8*b*, 9, 10-十二氢-5*a*, 6-二羟基-8*b*-甲基-6*a*-(1-甲基乙基)-1*H*-二环氧乙烯并[4*b*, 5:6, 7]菲并[1, 2-*c*]呋喃-1-酮(5mg, 实施例 1 制备)的二噁烷(1mL)溶液添加 2N HCl(0.5mL)。将反应混合物搅拌 5 小时, 然后用冷水(5mL)稀释。用乙酸乙酯(3x10mL)提取混合物, 合并有机提取物, 用盐水(3x10mL)洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。残余物通过柱色谱法(硅胶, 40%乙酸乙酯/己烷)纯化, 得到标题化合物(4.8mg, 82%)。

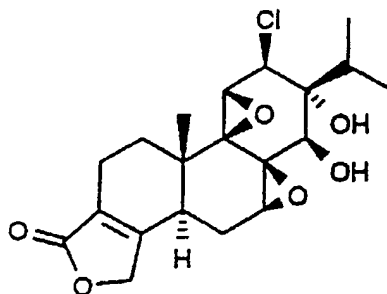
实施例 3

制备[1*S*-(1 α , 2 β , 3 α , 3 β , 4*aR**, 4*b* α , 11 β , 11 α)]-3-氯-1, 2, 3, 3*a*, 4*b*, 5, 6, 9, 9*b*, 10, 11, 11*a*-十二氢-1, 11*a*-二羟基-4*b*-甲基-2-(1-甲基乙基)-2, 11-环氧-7*H*-环

1110



2-methyl-2-butanol

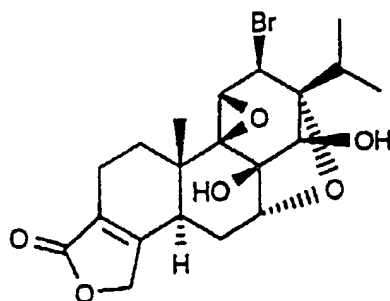


方案 B, 步骤 B: 将[1bS-(1aR*,1b α ,6b β ,7a β ,8aR*,9 α ,10 β ,11 α ,11a β)]-11-氯-10-(1-甲基乙基)-1b,3,6,6b,7,7a,9,10,11,11a-十氢-9,10-二羟基-1b-甲基-二环氧乙烯并[4b,5:8a,9]菲并[1,2-c]呋喃-4(2H)-酮(11mg)与二噁烷(1mL)和 1.5N 含水 HCl(1mL)合并, 并且在 85°C 下搅拌 26 小时。然后将反应混合物倾倒入水(5mL)中并用氯仿(3x5mL)提取。合并有机提取物, 用盐水(5mL)洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。将残余物通过制备 TLC(20x20cm,0.25mm,5%甲醇/氯仿)纯化, 得到标题化合物(4mg, 36%)。将标题化合物从己烷/氯仿中再结晶; mp 125°C dec.; $[\alpha]_D = -129^\circ$ (c=0.15, 氯仿)。

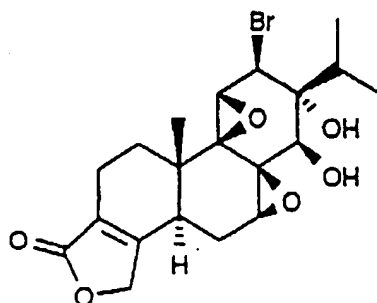
醚化合物的另一种制备。

实施例 4

制备[1S-(1 α ,2 β ,3 α ,3a β ,4aR*,4b α ,11 β ,11a α)]-3-溴-1,2,3,3a,4b,5,6,9,9b,10,11,11a-十二氢-1,11a-二羟基-4b-甲基-2-(1-甲基乙基)-2,11-环氧-7H-环氧乙烯并[4b,5]菲并[1,2-c]呋喃-7-酮



制备中间体[1bS-(1aR*,1b α ,6b β ,7a β ,8aR*,9 α ,10 β ,11 α ,11a β)]-11-溴-10-(1-甲基乙基)-1b,3,6,6b,7,7a,9,10,11,11a-十氢-9,10-二羟基-1b-甲基-二环氧乙烯并[4b,5:8a,9]菲并[1,2-c]呋喃-4(2H)-酮



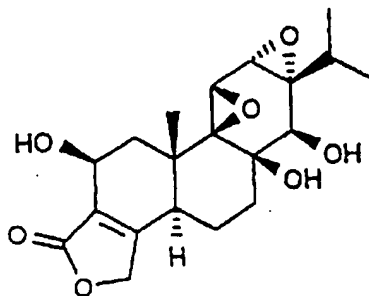
方案 B, 步骤 A: 将雷公藤内酯(100mg, 旋光性, 从天然源中分离)与丙酮(30mL)、水(2.5mL)和 30%含水 HBr(800mL)合并, 并且将反应混合物在 70℃下加热 70 小时。然后将反应混合物倾入水(60mL)中并真空浓缩。然后用二氯甲烷(3x60mL)提取剩余相, 合并有机提取物, 用盐水(60mL)洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩, 得到固体(118mg)。将该固体从己烷/二氯甲烷中再结晶, 得到白色立方体的标题化合物(82mg, 67%); mp 228℃; $[\alpha]_D = -164^\circ\text{C}$ (c=0.12, 氯仿)。

制备最终的标题化合物

方案 B, 步骤 B: 将[1bS-(1aR*, 1b α , 6b β , 7a β , 8aR*, 9 α , 10 β , 11 α , 11a β)]-11-溴-10-(1-甲基乙基)-1b, 3, 6, 6b, 7, 7a, 9, 10, 11, 11a-十氢-9, 10-二羟基-1b-甲基-二环氧乙烯并[4b, 5:8a, 9]菲并[1, 2-c]呋喃-4(2H)-酮(36mg)和细分粉末状硫酸氢钾(95mg)悬浮于无水甲苯(6mL)中, 并且在 75℃下加热 5 小时。将反应混合物通过硅藻土过滤, 并且用氯仿(10mL)漂洗固体。真空浓缩滤液, 得到白色粉末(40mg)。通过柱色谱法(硅胶, 氯仿然后 0.5-2%甲醇/氯仿)纯化白色粉末, 得到标题化合物(25mg, 70%); mp 195℃dec.。

实施例 5

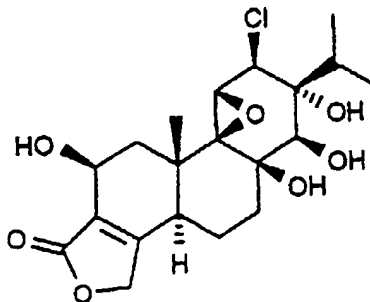
制备[3bS-(3b α , 5a β , 6 β , 6a β , 7a β , 7b α , 8aR*, 8b β , 10 β)]-3, 3b, 4, 5, 5a, 6, 6a, 7a, 7b, 8b, 9, 10-十二氢-5a, 6, 10-三羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1H-二环氧乙烯并[4b, 5:6, 7]菲并[1, 2-c]呋喃-1-酮



方案 A, 步骤 A: 在氮气环境中, 室温下向搅拌的雷公藤羟内酯(376mg, 1mmol, 旋光性, 从天然源中分离)的无水 THF(10mL)溶液添加氰基氢硼化钠(360mg, 6mmol), 接着逐滴添加纯三氟化硼合二乙醚(150mL, 173mg, 1.2mmol)。所得溶液在室温下搅拌 16 小时。然后通过添加 1N 含水氯化铵(25mL)使反应停止, 并且用二氯甲烷(3x25mL)提取。将合并的有机提取物用盐水 (25mL) 洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。然后通过闪蒸色谱法(氯仿然后 0.5% 甲醇/氯仿)纯化残余物, 得到标题化合物。

实施例 6

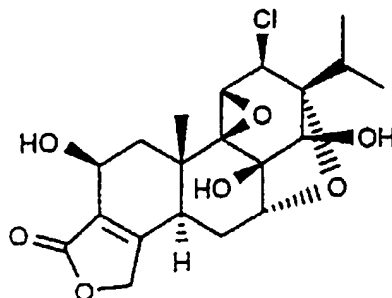
制备[1S-(1 α ,2 β ,3 α ,3a β ,4aR*,4b α ,6 α ,9b β ,11a α)]-3-氯-1,2,3,3a,4b,5,6,9,9b,10,11,11a-十二氢-1,2,6,11a-四羟基-4b-甲基-2-(1-甲基乙基)-7H-环氧乙烷并[4b,5]菲并[1,2-c]呋喃-7-酮



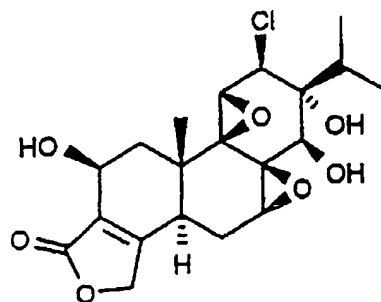
方案 A, 步骤 C: 室温下, 向搅拌的[3bS-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8aR*,8b β ,10 β)]-3,3b,4,5,5a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a,6,10-三羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1H-二环氧乙烷并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-1-酮(5mg, 实施例 5 制备)的二噁烷(1mL)溶液添加 2N HCl(0.5mL)。将反应混合物搅拌 5 小时, 然后用冷水稀释(5mL)。用乙酸乙酯(3x10mL)提取混合物, 合并有机提取物, 用盐水(3x10mL)洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。残余物通过柱色谱法(硅胶, 1-2% 甲醇/氯仿)纯化, 得到标题化合物。

实施例 7

制备[1*S*-(1 α ,2 β ,3 α ,3 $\alpha\beta$,4 αR^* ,4 $\beta\alpha$,6 α ,9 $\beta\beta$,11 β ,11 $\alpha\alpha$)]-3-氯-1,2,3,3a,4b,5,6,9,9b,10,11,11a-十二氢-1,6,11a-三羟基-4b-甲基-2-(1-甲基乙基)-2,11-环氧-7*H*-环氧乙烯并[4b,5]菲并[1,2-*c*]呋喃-7-酮



制备中间体[1*bS*-(1 αR^* ,1 $\beta\alpha$,3 α ,6 $\beta\beta$,7 $\alpha\beta$,8 αR^* ,9 α ,10 β ,11 α ,11 $\alpha\beta$)]-11-氯-1b,3,6,6b,7,7a,9,10,11,11a-十氢-3,9,10-三羟基-1b-甲基-10-(1-甲基乙基)-二环氧乙烯并[4b,5:8,9]菲并[1,2-*c*]呋喃-4(2*H*)-酮



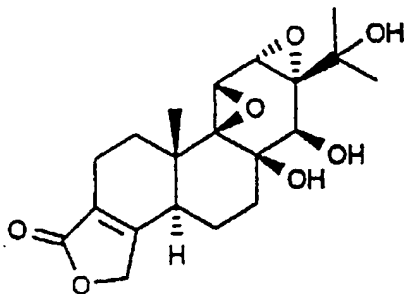
方案 B, 步骤 A: 将雷公藤羟内酯(0.277mmol,旋光性,从天然源中分离)与二噁烷(15mL)和 1.5N 含水 HCl(15mL)的混合物合并,并且将反应混合物在室温下搅拌 48 小时。然后将反应混合物倾入水(50mL)中并用氯仿(3x40mL)提取。用盐水(60mL)洗涤合并的有机提取物,通过无水硫酸镁干燥,过滤并真空浓缩。然后通过闪蒸色谱法(硅胶,2%甲醇/氯仿)纯化残余物,得到标题化合物。

制备最终的标题化合物

方案 B, 步骤 B: 将[1b*S*-(1a*R**,1b α ,3 α ,6b β ,7a β ,8a*R**,9 α ,10 β ,11 α ,11a β)]-11-氯-1b, 3, 6, 6b,7,7a,9,10,11,11a-十氢-3,9,10-三羟基-1b-甲基-10-(1-甲基乙基)-二环氧乙烯并[4b,5:8,9]菲并[1,2-*c*]呋喃-4(2*H*)-酮(11mg)与二噁烷(1mL)和 1.5N 含水 HCl(1mL)合并, 并且在 85°C 下搅拌 26 小时。然后将反应混合物倾入水(50mL)中, 并用氯仿(3x5mL)提取。合并有机提取物, 用盐水(5mL)洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。通过制备 TLC (20x20cm,0.25mm,3%甲醇/氯仿)纯化残余物, 得到标题化合物。

实施例 8

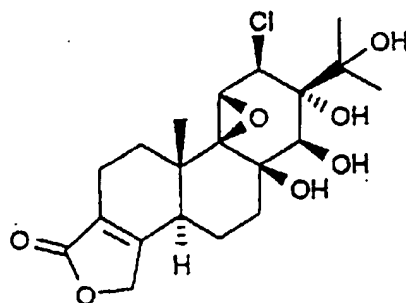
制备[3b*S*-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8a*R**,8b β)]-3, 3b, 4, 5, 5a,6, 6a, 7a, 7b, 8b, 9, 10-十二氢-5a,6-二羟基-6a-(1-羟基-1-甲基乙基)-8b-甲基-1*H*-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-*c*]呋喃-1-酮



方案 A, 步骤 A: 室温下在氮气环境中向搅拌的雷醇内酯(100mg)的无水 THF(30mL)溶液添加氢硼化锂(THF 中的 236mL 2N 溶液), 接着添加纯三氟化硼合二乙醚(52mL)。将反应混合物搅拌 90 分钟, 然后仔细用 1N HCl(10mL)处理。再搅拌 10 分钟后, 用二氯甲烷(3x20mL)提取反应混合物。合并有机提取物, 用 1N 碳酸氢钠(2x20mL)、盐水洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。然后将残余物通过柱色谱法(20%乙酸乙酯/己烷)纯化, 得到标题化合物。

实施例 9

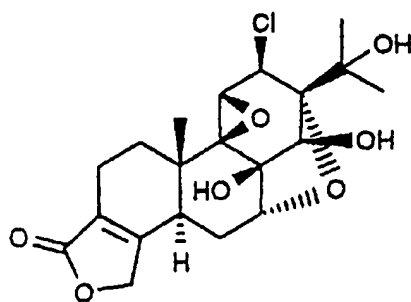
制备[1*S*-(1 α ,2 β ,3 α ,3 $\alpha\beta$,4 αR^* ,4 $\beta\alpha$,9 $\beta\beta$,11 $\alpha\alpha$)]-3-氯-1,2,3,3 α ,4 β ,5,6,9,9 β ,10,11,11 α -十二氢-1,2,11 α -三羟基-2-(1-羟基-1-甲基乙基)-4 β -甲基-7*H*-环氧乙烯并[4 β ,5]菲并[1,2-*c*]呋喃-7-酮



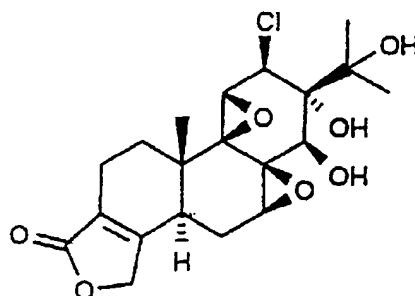
方案 A, 步骤 C: 室温下, 向搅拌的[3*bS*-(3 $\beta\alpha$,5 $\alpha\beta$,6 β ,6 $\alpha\beta$,7 $\alpha\beta$,7 $\beta\alpha$,8 αR^* ,8 $\beta\beta$)]-3, 3 β , 4, 5, 5 α ,6, 6 α , 7 α , 7 β , 8 β , 9, 10-十二氢-5 α ,6-二羟基-6 α -(1-羟基-1-甲基乙基)-8 β -甲基-1*H*-二环氧乙烯并[4 β ,5:6,7]菲并[1,2-*c*]呋喃-1-酮 (5mg, 实施例 8 制备)的二噁烷(1mL)溶液中添加 2N HCl(0.5mL)。将反应混合物搅拌 5 小时, 然后用冷水稀释(5mL)。用乙酸乙酯(3x10mL)提取混合物, 合并有机提取物, 用盐水(3x10mL)洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。残余物通过柱色谱法(硅胶, 1%甲醇/氯仿)纯化, 得到标题化合物。

实施例 10

制备[1*S*-(1 α ,2 β ,3 α ,3 $\alpha\beta$,4 αR^* ,4 $\beta\alpha$,9 $\beta\beta$,11 β ,11 $\alpha\alpha$)]-3-氯-1, 2, 3, 3 α , 4 β , 5, 6, 9, 9 β , 10,11,11 α -十二氢-1,11 α -二羟基-2-(1-羟基-1-甲基乙基)-4 β -甲基-2,11-环氧-7*H*-环氧乙烯并[4 β ,5]菲并[1,2-*c*]呋喃-7-酮



制备中间体[1bS-(1aR*,1b α ,6b β ,7a β ,8aR*,9 α ,10 β ,11 α ,11a β)]-11-氯-1b, 3, 6, 6b, 7,7a,9,10,11,11a-十氢-10-(1-羟基-1-甲基乙基)-1b-甲基-二环氧乙烯并[4b,5:8a,9]菲并[1,2-c]呋喃-4(2H)-酮



方案 B, 步骤 A: 将雷醇内酯(100mg)与二噁烷(15mL)和 1.5N 含水 HCl (15mL)的混合物合并, 并且将反应混合物在室温下搅拌 48 小时。然后将反应混合物倾入水(50mL)中并用氯仿(3x40mL)提取。用盐水(60mL)洗涤合并的有机提取物, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。通过闪蒸色谱法(硅胶, 2%甲醇/氯仿)纯化残余物, 得到标题化合物。

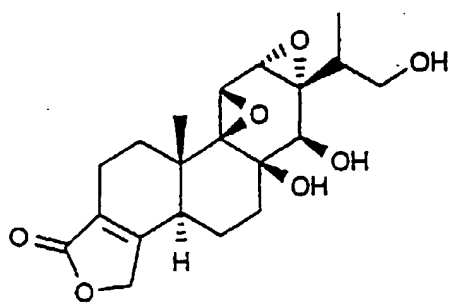
制备最终的标题化合物

方案 B, 步骤 B: 将[1bS-(1aR*,1b α ,6b β ,7a β ,8aR*,9 α ,10 β ,11 α ,11a β)]-11-氯-1b, 3, 6, 6b, 7,7a,9,10,11,11a-十氢-10-(1-羟基-1-甲基乙基)-1b-甲基-二环氧乙烯并[4b,5:8a,9]菲并[1,2-c]呋喃-4(2H)-酮(11mg)与二噁烷(1mL)和 1.5N 含水 HCl(1mL)合并, 并且在 85℃下搅拌 26 小时。然后将反应混合物倾入水(5mL)中并用氯仿(3x5mL)提取。合并有机提取物, 用盐水(5mL)洗涤, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并真空浓缩。将残余物通过制备 TLC (20x20cm,0.25mm,3%甲醇/氯仿)纯化, 得到标题化合物。

实施例 11

制备[3bS-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8aR*,8b β)]-6a-(2-羟基-1-甲基乙基)-3,3b,4,5, 5a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a,6-二羟基-8b-甲基-1H-二环氧乙

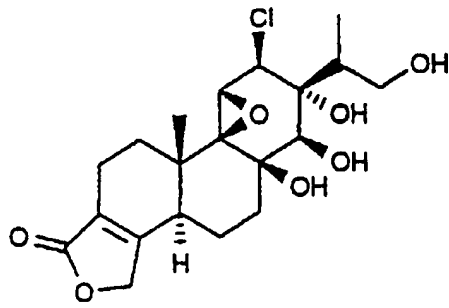
烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-1-酮



方案 A, 步骤 A: 以实施例 1 所述过程的类似方式由 16-羟基-雷公藤内酯制备标题化合物。

实施例 12

制备[1S-(1 α ,2 β ,3 α ,3a β ,4aR*,4b α ,9b β ,11a α)]-3-氯-2-(2-羟基-1-甲基乙基)-1,2,3,3a,4b,5,6,9,9b,10,11,11a-十二氢-1,2,11a-三羟基-4b-甲基-7H-环氧乙
烯并[4b,5]菲并[1,2-c]呋喃-7-酮

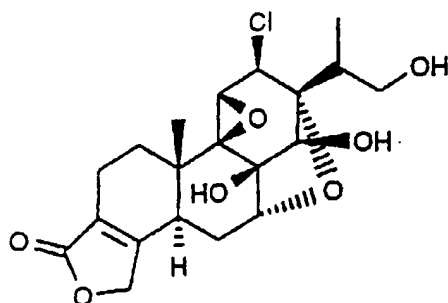


方案 A, 步骤 B: 以实施例 2 所述过程的类似方式由实施例 11 制备的 [3bS-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8aR*,8b β)]-6a-(2-羟基-1-甲基乙基)-3,3b,4,5,5a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a,6-二羟基-8b-甲基-1H-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-1-酮制备标题化合物。

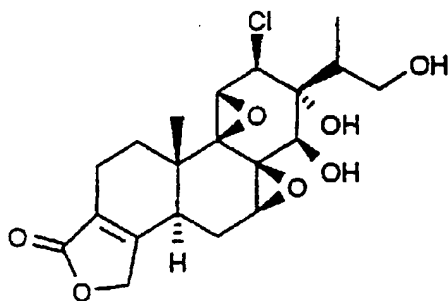
实施例 13

制备[1S-(1 α ,2 β ,3 α ,3a β ,4aR*,4b α ,9b β ,11 β ,11a α)]-3-氯-2-(2-羟基-1-甲基乙

基)-1,2,3,3a,4b,5,6,9,9b,10,11,11a-十二氢-1,11a-二羟基-4b-甲基-1,11-环氧-7H-环氧乙烯并[4b,5]菲并[1,2-c]呋喃-7-酮



制备中间体[1bS-(1aR*,1b α ,6b β ,7a β ,8aR*,9 α ,10 β ,11 α ,11a β)]-11-氯-10-(2-羟基-1-甲基乙基)-1b,3,6,6b,7,7a,9,10,11,11a-十氢-9,10-二羟基-1b-甲基-二环氧乙烯并[4b,5:8a,9]菲并[1,2-c]呋喃-4(2H)-酮



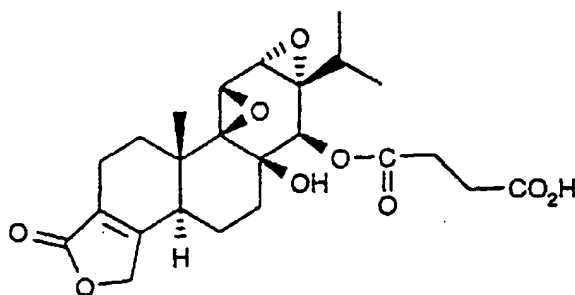
方案 B，步骤 A：以实施例 3 所述过程的类似方式由 16-羟基-雷公藤内酯制备标题化合物。

制备最终的标题化合物

方案 B，步骤 B：以实施例 3 所述过程的类似方式，由上述制备的[1bS-(1aR*,1b α ,6b β ,7a β ,8aR*,9 α ,10 β ,11 α ,11a β)]-11-氯-10-(2-羟基-1-甲基乙基)-1b,3,6,6b,7,7a,9,10,11,11a-十氢-9,10-二羟基-1b-甲基-二环氧乙烯并[4b,5:8a,9]菲并[1,2-c]呋喃-4(2H)-酮制备最终标题化合物。

实施例 14

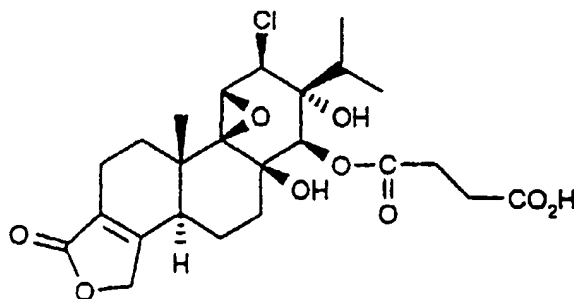
制备丁二酸[3b*S*-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8a*R**,8b β)]-单[3, 3b, 4, 5, 5a, 6, 6a, 7a, 7b, 8b, 9,10-十二氢-5a-羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1-氧代-1*H*-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-*c*]呋喃-6-基]酯



方案 A, 步骤 B: 将[5a*R*-(5a α ,6 α ,6a α ,7a α ,7b β ,8a*S**,8b α)]-3,3b,4,5,5a,6, 6a,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a,6-二羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1*H*-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-*c*]呋喃-1-酮(1mmol, 实施例 1 制备)、琥珀酸酐(1.1mmol)、4-二甲氨基吡啶(1.1mmol)和吡啶(0.10mL)于 DMF(3mL)中合并。将反应混合物在室温下搅拌 24 小时, 然后真空浓缩。加入水, 然后通过添加 1N HCl 使其呈微酸性。用二氯甲烷(3x5mL)提取含水物, 合并有机提取物, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。通过闪蒸色谱法在硅胶上(1-5%甲醇/氯仿)纯化残余物, 得到标题化合物。

实施例 15

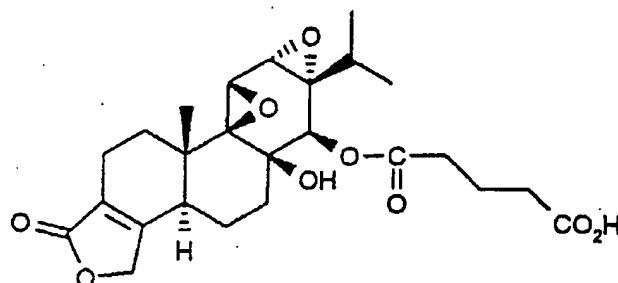
制备丁二酸[1*S*-(1 α ,2 β ,3 α ,3a β ,4a*R**,4b α ,9b β ,11a α)]-单[3-氯-1, 3, 3a, 4b, 5, 6, 7, 9,9b,10,11,11a-十二氢-2,11a-二羟基-4b-甲基-2-(1-甲基乙基)-7-氧代-2*H*-环氧乙烯并[4b,5]菲并[1,2-*c*]呋喃-1-基]酯



方案 A, 步骤 D: 将[1*S*-(1 α ,2 β ,3 α ,3 $\alpha\beta$,4 αR^* ,4 $\beta\alpha$,11 $\alpha\alpha$)]-3-氯-1,2,3,3 α ,4 β ,5,6,9,9 β ,1-,11,11 α -十二氢-1,2,11 α -三羟基-4 β -甲基-2-(1-甲基乙基)-7*H*-环氧乙烯并[4 β ,5]菲并[1,2-*c*]呋喃-7-酮(1mmol, 实施例 2 制备)、琥珀酸酐(1.2mmol)、4-二甲氨基吡啶(1.2mmol)和吡啶(0.10mL)于 DMF(3mL)中合并。将反应混合物在室温下搅拌 24 小时, 然后真空浓缩。加入水, 然后通过添加 1N HCl 使其呈微酸性。用二氯甲烷(3x5mL)提取含水物, 合并有机提取物, 通过无水硫酸镁干燥, 过滤并且真空浓缩。通过闪蒸色谱法在硅胶上(1%-5%甲醇/氯仿)纯化残余物, 得到标题化合物。

实施例 16

制备戊二酸[3*bS*-(3 $\beta\alpha$,5 $\alpha\beta$,6 β ,6 $\alpha\beta$,7 $\alpha\beta$,7 $\beta\alpha$,8 αR^* ,8 $\beta\beta$)]-单[3, 3 β , 4, 5, 5 α , 6, 6 α , 7 α , 7 β , 8 β , 9,10-十二氢-5 α -羟基-8 β -甲基-6 α -(1-甲基乙基)-1-氧代-1*H*-二环氧乙烯并[4 β ,5:6,7]菲并[1,2-*c*]呋喃-6-基]酯

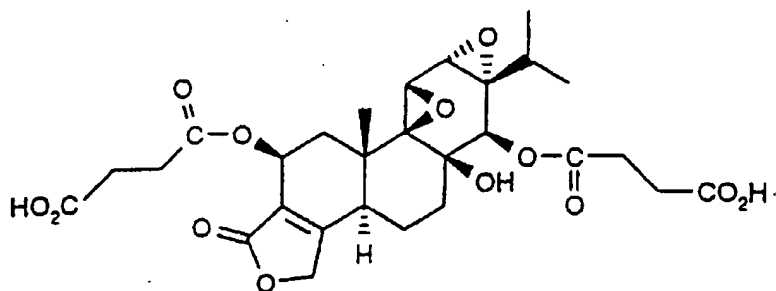


方案 A, 步骤 B: 以实施例 14 所述过程的类似方式由实施例 1 制备的[5 αR -(5 $\alpha\alpha$,6 α ,6 $\alpha\alpha$,7 $\alpha\alpha$,7 $\beta\beta$,8 αS^* ,8 $\beta\alpha$)]-3,3 β ,4,5,5 α ,6,6 α ,7 α ,7 β ,8 β ,9,10-十二氢-5 α ,6-二羟基-8 β -甲基-6 α -(1-甲基乙基)-1*H*-二环氧乙烯并[4 β ,5:6,7]菲并[1,2-*c*]呋喃-1-酮和戊二酸酐制备标题化合物。

实施例 17

制备丁二酸[3*bS*-(3 $\beta\alpha$,5 $\alpha\beta$,6 β ,6 $\alpha\beta$,7 $\alpha\beta$,7 $\beta\alpha$,8 αR^* ,8 $\beta\beta$,10 β)]-3, 3 β , 4, 5, 5 α , 6, 6 α , 7 α , 7 β , 8 β ,9,10-十二氢-5 α -羟基-8 β -甲基-6 α -(1-甲基乙基)-1-氧代-1*H*-

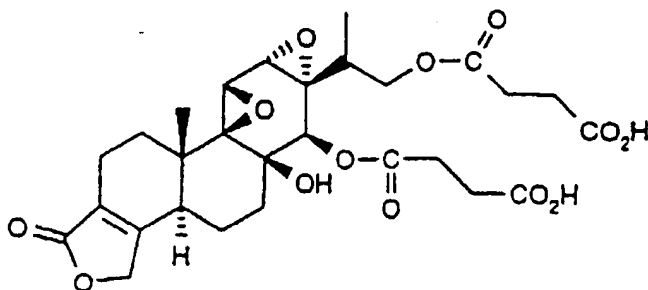
二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-6,10-二基酯



方案 A, 步骤 B: 将[3bS-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8aR*,8b β ,10 β)]-3, 3b, 4, 5, 5a,6, 6a, 7a, 7b, 8b,9,10-十二氢-5a,6,10-三羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1H-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-1-酮(1mmol,实施例 5 制备)、琥珀酸酐(2.2mmol)、4-二甲氨基吡啶(2.2mmol)和吡啶(0.20mL)于 DMF(3mL)中合并。将反应混合物在室温下搅拌 24 小时,然后真空浓缩。加入水,然后通过添加 1N HCl 使其呈微酸性。用二氯甲烷(3x5mL)提取含水物,合并有机提取物,通过无水硫酸镁干燥,过滤并且真空浓缩。通过闪蒸色谱法在硅胶上(1%-5%甲醇/氯仿)纯化残余物,得到标题化合物。

实施例 18

制备了二酸[3bS-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8aR*,8b β)]-[2-[6-(3-羧基-1-氧代丙氧基)-1,3,3b,4,5,5a,6,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a-羟基-8b-甲基-1-氧代-6aH-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-6a-基]-丙基]酯



实施例 19

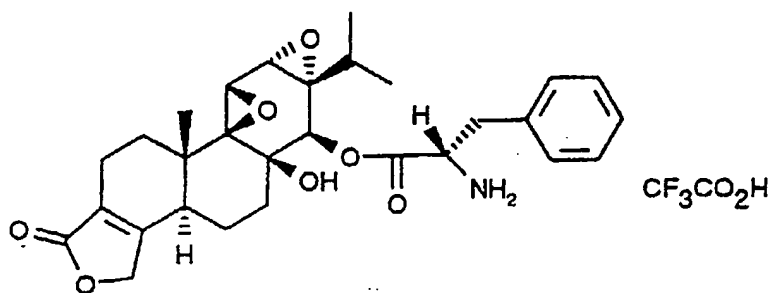
Chemical structure of a complex steroid derivative, likely a steroid hormone, showing multiple rings, functional groups (hydroxyl, ketone, ester), and stereochemistry. The structure is labeled with $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$.

33

解于二氯甲烷(20mL)并用 0.5N HCl(20mL)、饱和碳酸氢钠(20mL)和盐水(20mL)洗涤。通过无水硫酸镁干燥有机相，过滤并真空浓缩滤液。通过闪蒸色谱法(硅胶，乙酸乙酯/己烷)纯化残余物，得到纯化的 BOC-保护的标题化合物。将 BOC-保护的标题化合物溶解于乙醚(15mL)，并缓慢用 1N 三氟乙酸(1mL)处理。将反应物搅拌 1 小时并且过滤反应物收集固体。用乙醚洗涤固体并且真空干燥，得到标题化合物。

实施例 20

制备[3bS-(3b α ,5a β ,6 β ,6a β ,7a β ,7b α ,8aR*,8b β)]-3,3b,4,5,5a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a-羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1H-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-6-基酯，L-苯丙氨酸三氟乙酸酯



方案 A，步骤 B：在氮气环境下，将[5aR-(5a α ,6 α ,6a α ,7a α ,7b β ,8aS*,8b α)]-3,3b,4,5,5a,6,6a,7a,7b,8b,9,10-十二氢-5a,6-二羟基-8b-甲基-6a-(1-甲基乙基)-1H-二环氧乙烯并[4b,5:6,7]菲并[1,2-c]呋喃-1-酮(36mg,0.1mmol,实施例 1 制备)与 N-(叔丁氧羰基)-L-苯丙氨酸(29.1mg,0.11mmol)和二甲氨基吡啶(23 μ L,0.2mmol)于无水二氯甲烷(5mL)中合并。将溶液冷却至 0℃并加入二环己基碳二亚胺(40mg,0.2mmol)。将反应物加温至室温并且搅拌 3 小时。然后将反应物过滤，并且真空浓缩滤液。将残余物溶解于二氯甲烷(20mL)并用 0.5N HCl(20mL)、饱和碳酸氢钠(20mL)和盐水(20mL)洗涤。通过无水硫酸镁干燥有机相，过滤并真空浓缩滤液。通过闪蒸色谱法(硅胶，乙酸乙酯/己烷)纯化残余物，得到纯化的 BOC-保护的标题化合物。

物。将 BOC-保护的标题化合物溶解于乙醚(15mL)，并缓慢用 1N 三氟乙酸(1mL)处理。将反应物搅拌 1 小时并且过滤反应物收集固体。用乙醚洗涤固体并且真空干燥，得到标题化合物。

为举例说明本发明的使用方法，提供以下实施例。这些实施例仅为举例说明，而不可解释为是对本发明范围的限制。

实施例 21

白介素-2 分析

让 Jurkat E6-1 细胞系(ATCC)、人白血病 T 细胞系或淋巴细胞（从新鲜人血中制备）在由补充有 10%v/v 胎牛血清(佛蒙特 Logen 的 HyClone)、青霉素(100 单位/mL)、链霉素(200mg/mL)和 2mM L-谷酰胺(纽约 Grand Island 的 GIBCO)的 RPMI-1640 (Mediatech)组成的完全培养基中生长。使用前让细胞生长到 $1.2-1.8 \times 10^6$ 细胞/mL 的浓度。然后将细胞低速离心，并且在新的培养基中再悬浮至 1.25×10^6 细胞/mL 的浓度。

将待测试的化合物溶解于 DMSO 中，并且加入水制成 50%DMSO/水的溶液。然后用无菌水稀释化合物致使 DMSO 浓度小于 0.05%。用 $10 \mu\text{g/mL}$ 植物血球凝集素(PHA)和 10^{-8}M 佛波酯(Phorbol ester) (12-O-十四酰佛波醇 13-乙酸酯: TPA) (密苏里州, St.Louis 的 Sigma,)刺激 1.25×10^6 浓度的细胞。然后加入化合物，并且将细胞在平底组织培养板(Falcon, 新泽西州, Lincoln Park)中培养，为 250,000 个细胞/孔。然后将平板在 5% CO_2 气氛中 37°C 下培养。

培养(16-24 小时)之后，分析细胞的 IL-2 产生和细胞存活力(MTT)。使用固相 ELISA 免疫测定(由明尼苏达州, Minneapolis 的 R&D Systems, Inc. 市售的试剂盒形式)来分析 IL-2 的产生。

实施例 22

细胞存活力

通过使用线粒体酶分析试验来测定细胞的存活力。在除去 IL-2 分析用的上清液之后, 将 Cell Titer 96(从威斯康星州, Madison 的 Promega 获得的 MTT 的市售溶液)加入平板中, 并且在 37°C 下培养 4 小时。然后加入增溶溶液, 并且培养过夜。然后在 ELISA 平板读数器上在 570nm 的波长下读取平板。表 II 显示了白介素-2 分析的结果、细胞存活力和细胞存活力/IL-2 抑制的比。

表 II

化合物	IC ₅₀ /IL-2 (ng/mL)	IC ₅₀ /MTT (ng/mL)	MTT/IL-2
雷公藤内酯	1-3	5	2-4
实施例 1	36	300-500	8-14
实施例 2	60	550	9
实施例 3	140	>1,000	-

实施例 23

佐剂诱发关节炎的大鼠模型中的抗炎活性

总体根据 Pearson 和 Wood, *Arth.Rheum.*, 2, 44 (1959)所述的过程, 测定佐剂诱发关节炎的大鼠模型中的以下化合物之抗炎活性。使用体重为 160-200g 之间的雄性 Wistar-Lewis 大鼠[Mollegaard, 喂养中心公司 (Breeding Centre Ltd), BIBY, DK 4623LI, SKENSVED, P.P. Box 28, DK)。将弗氏佐剂(0.1mL, 每 mL 重白色石蜡油中 6mg 耻垢分支杆菌悬浮液, Merck/Darmstadt) 注射到尾根部分。在试验的第 10 天和第 14 天之间, 免疫病理学过程导致慢性炎症, 特别是以身体所有部位的关节炎和关节周炎症状的形式。动物接受标准化饲料 Altromin-R (Altrogge,Lage), 并且自由饮水。连续 12 天 i.p.施用化合物(羧甲基纤维素溶液的悬浮液, 注射体积为 0.5mL/100g 体重), 开始日用佐剂注射。在试验的第 1 天和

第 18 天，记录下两个后爪的体积和体重，并且在第 18 天还记载下其关节炎指数。使用环孢菌素 A 和泼尼松龙(Prednisolone)作为标准化合物。上述试验结果记录在表 III 中。此外，表 IV 显示了上述试验第 1 天和第 2 天之间体重的百分变化率。

表 III

化合物	剂量 mg/kg/天 i.p.	%抑制率
实施例 1	10	90
雷公藤内酯	0.2	70
雷公藤内酯	0.4	85
雷公藤内酯	0.8	76
环孢菌素 A	10	100
泼尼松龙	15	100

表 IV

化合物	剂量 mg/kg/天 i.p.	体重的%变化率
实施例 1	10	29.9
雷公藤内酯	0.2	17.2
雷公藤内酯	0.4	22.0
雷公藤内酯	0.8	18.0
环孢菌素 A	10	27.2
泼尼松龙	15	14.2
佐剂-关节炎 对照, CMC	5mL	17.9
正常的无关节炎动物	-	32.0

本发明提供一种对患有自身免疫疾病患者的治疗方法，该方法包括给所说的患者施用有效量的式(I)、(II)或(III)中任一种的化合物。术语“自身免疫疾病”是指患者的免疫应答是指患者自身的要素导致不期望且经常性的极端虚弱的状态。属于自身免疫疾病范围的疾病包括 ARDS、肠炎包括溃疡性结肠炎和局限性回肠炎、类风湿性关节炎、I 型糖尿病、川崎病、多发性硬化症、家族性地中海热、牛皮癣和狼疮。患自身免疫疾病的患者需要用抗炎剂如式(I)、(II)或(III)的化合物进行治疗。此外，患同种异体移植排斥和移植物抗宿主疾病(Graft-versus-host disease)的患者需要用抗炎剂如式(I)、(II)或(III)的化合物进行治疗。因此，通过施用式(I)、(II)或(III)化合物治疗患有这些疾病的患者，可以特别有效地防止患者病症的进一步恶化和加重。对自身免疫疾病早期患者进行治疗将特别有效地防止这些病症进一步恶化成更严重的病态。特别优选式(I)、(II)或(III)化合物治疗的自身免疫疾病是类风湿性关节炎、青少年关节炎、全身性红斑狼疮和牛皮癣。

这里所说的术语“患者”是指患有或者有患有急性或慢性炎症、与免疫学疾病如自身免疫疾病相关的细胞损伤或细胞死亡危险的温血动物如哺乳动物。可以理解人、狗、豚鼠、小鼠和大鼠均属于术语“患者”的范围。

给患者施用式(I)、(II)或(III)化合物将在患者体内产生免疫抑制或抗炎作用。根据标准临床和实验室的试验和过程，作为本领域技术人员的主治诊断医师可以很容易地识别需要用免疫抑制剂或抗炎剂如式(I)、(II)或(III)化合物治疗的患者。

式(I)、(II)或(III)化合物的有效量是指给患者施用单剂量或多剂量时能够起到免疫抑制或抗炎作用的有效量。

式(I)、(II)或(III)化合物的有效量可以容易地由作为本领域技术人员的主治诊断医师通过使用已知技术和通过观察类似情况下所得结果确定。在确定有效量或剂量时，主治诊断医师要考虑很多因素，包括(但不

限于此): 哺乳动物种类; 其大小、年龄和健康状况; 所针对的疾病类型; 疾病的程度或疾病的牵连性(involvement)或严重性; 个体患者的响应; 所用的具体化合物; 给药方式; 所用制剂的生物可利用性; 所选择的剂量方式; 伴随药疗法的使用; 以及其它有关的情况。

式(I)、(II)或(III)化合物的有效量预计为约 0.1 毫克/千克体重/天 (mg/kg/天)-约 50mg/kg/天。预计的优选量为约 0.2-约 25mg/kg/天, 最优选约 1-约 10 mg/kg/天。

在有效治疗患上所述疾病的患者时, 式(I)、(II)或(III)化合物可以以任何使化合物以有效量生物利用的形式和方式进行给药, 包括口服和肠胃外途径。例如, 式(I)、(II)或(III)化合物可以口服、皮下、肌内、静脉内、经皮、鼻内、直肠等方式给药。一般优选口服给药和静脉内给药。依据需治疗病态选择的化合物的特性、疾病阶段和其它有关情况, 制剂制备领域的技术人员可以容易选择合适的给药形式和方式。

式(I)、(II)或(III)化合物可以单独施用, 也可以结合药学可接受载体或赋形剂以药物组合物的形式施用, 其中所说载体或赋形剂的用量和性质可通过所选化合物的溶解度和化学特性、所选择的给药途径以及标准药学实践来确定。本发明的化合物虽然本身是有效的, 但出于稳定性、结晶方便性、增加溶解度等的目的, 也可以配制成制剂并以其药学可接受的酸加成盐的形式施用。

在另一个实施方案中, 本发明提供一种组合物, 该组合物包含与一种或多种惰性载体混合或缔合的式(I)、(II)或(III)化合物。这些组合物可例如作为分析标准、作为散装装运的方便工具或作为药物组合物使用。式(I)、(II)或(III)化合物的可分析量是可通过本领域技术人员公知和可领会的标准分析过程和技术容易测定的量。式(I)、(II)或(III)化合物的可分析量一般为组合物重量的约 0.001-约 75%。惰性载体可以是不降解或者不与式(I)、(II)或(III)化合物共价反应的任何原料。适宜的惰性原料的实例是水; 含水缓冲液, 如一般适用于高效液相色谱(HPLC)的缓冲剂; 有

机溶剂，如乙腈、乙酸乙酯、己烷等；以及药学上可接受的载体或赋形剂。

更具体说，本发明提供一种药物组合物，该组合物包含与一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂混合或缔合的有效量的式(I)、(II)或(III)化合物。药物组合物以药物领域公知的方法制备。载体或赋形剂可以是起活性成分的载体或介质作用的固体、半固体、或液体原料。适宜的载体或赋形剂为本领域所公知。可将药物组合物制成适合口服或肠胃外使用，包括局部使用，并且可以以片剂、胶囊剂、栓剂、溶液、悬浮液等的形式给患者使用。

本发明的化合物可以口服给药，例如，用惰性稀释剂或用可食用载体。可以将它们包裹在明胶胶囊中或压成片。为口服治疗给药的目的，可以将化合物与赋形剂混合，并以片剂、锭剂、胶囊剂、酏剂、悬浮剂、糖浆剂、糯米纸囊剂、咀嚼胶等的形式使用。这些制剂应当包含至少 4% 的本发明化合物(即活性成分)，但可根据具体的形式而有所变化，并且适宜是 4-约 70%重量单位。组合物中存在的化合物的量应当是可获得的适宜剂量。优选按照口服剂量单位形式包含 5.0-300 毫克本发明化合物的方式制备本发明的组合物和制剂。

片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂等中还可以包含一种或几种以下的辅剂：粘合剂如微晶纤维素、黄蓍胶或白明胶；赋形剂如淀粉或乳糖；崩解剂如海藻酸、Primogel、玉米淀粉等；润滑剂如硬脂酸镁或 Sterotex；滑移剂(glidants)如胶体二氧化硅；并且可以添加甜味剂如蔗糖或糖精和风味剂如薄荷、水杨酸甲酯或橙子香精。当剂量单位形式是胶囊剂式，除上述类型的原料外其中还可含液体载体，如聚乙二醇或脂肪油。其它剂量单位形式可含改良剂量单位物理形式的其它各种原料，例如包衣。因此可以用糖、紫胶、或其它肠衣剂包敷片剂或丸剂。糖浆剂除本发明的化合物外可以包含甜味剂蔗糖或一些防腐剂、染料和着色剂以及香精。制备这些各种组合物用的原料应当是药学纯的并且用量是无毒的。

为肠胃外给药目的(包括局部给药), 可以将本发明的化合物混合到溶液或悬浮液中。这些制剂应当包含至少 0.1% 的本发明化合物, 但可以是 0.1-约 50% 重量。这种组合物中存在的本发明化合物的量应当是可获得的适宜剂量。优选按照肠胃外给药剂量单位形式包含 5.0-100 毫克本发明化合物的方式制备本发明的组合物和制剂。

溶液或悬浮液中还可以包含一种或几种以下辅剂: 无菌稀释剂如注射用水、盐水溶液、不挥发油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其它合成溶剂; 抗菌剂如苯甲醇、对羟苯甲酸甲酯; 抗氧化剂如抗坏血酸或亚硫酸氢钠; 螯合剂如乙二胺四乙酸; 缓冲剂, 如乙酸盐、柠檬酸盐和磷酸盐; 以及张力调节剂, 如氯化钠或葡萄糖。肠胃外制剂可以装入安瓿、一次性注射管、玻璃或塑料制的多剂量小瓶中。

说到具有特定属功用的结构相关化合物的任何组, 优选以下某些组和结构, 其中对式(I)化合物来说, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 是 H; R_2 、 R_3 和 R_4 是 H 且 R_1 是 OH; R_1 、 R_3 和 R_4 是 H, R_2 是 OH; R_1 、 R_2 和 R_4 是 H, R_3 是 $C(=O)(CH_2)_2CO_2H$ 或 $C(=O)(CH_2)_3CO_2H$; 且,

对式(II)化合物来说, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 是 H; R_2 、 R_3 和 R_4 是 H 且 R_1 是 OH; R_1 、 R_3 和 R_4 是 H, R_2 是 OH; R_1 、 R_2 和 R_4 是 H, R_3 是 $C(=O)(CH_2)_2CO_2H$ 或 $C(=O)(CH_2)_3CO_2H$; 此外, 优选其中 X 是 Cl 或 Br 的化合物; 以及,

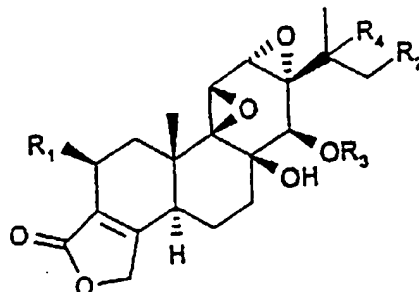
对式(III)化合物来说, R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 是 H; R_2 、 R_3 和 R_4 是 H 且 R_1 是 OH; R_1 、 R_3 和 R_4 是 H, R_2 是 OH; R_1 、 R_2 和 R_4 是 H, R_3 是 $C(=O)(CH_2)_2CO_2H$ 或 $C(=O)(CH_2)_3CO_2H$; 此外, 优选其中 X 是 Cl 或 Br 的化合物。另外, 式(I)、(II)和(III)化合物中的取代基 R_3 和 R_5 , 各自独立地, 优选的适宜氨基酸是 Ala、Gln、Lys、Arg、和 Phe, 最优选 Ala、Gln 和 Lys。

99.11.23

利 要 求 书
按照条约第 19 条的修改

国际局于 1998 年 10 月 13 日(13.10.98)收到; 原递交的权利要求 34-43 作了修改, 其他权利要求没有修改(3 页)。

34、一种药物组合物，该组合物包含药学上可接受的载体和药学上有效量的下式的化合物：



其中

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或 $-OR_5$;

R_3 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸;

R_4 是 H 或 $-OH$;

R_5 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

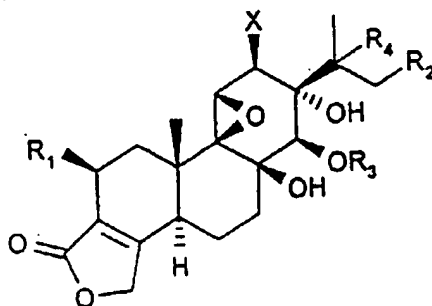
及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H; 该组合物用于治疗自身免疫疾病。

35、权利要求 34 的组合物，其中自身免疫疾病是类风湿性关节炎。

36、权利要求 35 的组合物，其中 R_1 是 H， R_2 是 H， R_3 是 H 且 R_4 是 H。

37、一种药物组合物，该组合物包含药学上可接受的载体和药学上有效量的下式的化合物：



其中

X 是 I、Br、Cl、F 或-CN;

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或-OR₅;

R_3 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

R_4 是 H 或-OH;

R_5 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

n 是整数 2、3、4、5 或 6;

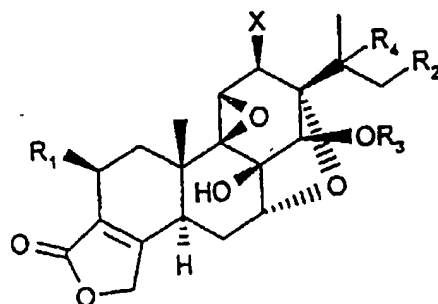
及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐;

其前提条件是当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H; 该组合物用于治疗自身免疫疾病。

38、权利要求 37 的组合物, 其中所说的自身免疫疾病是类风湿性关节炎。

39、权利要求 38 的化合物, 其中 R_1 是 H, R_2 是 H, R_3 是 H、 R_4 是 H 且 X 是 Cl。

40、一种药物组合物, 该组合物包含药学上可接受的载体和药学上有效量的下式的化合物:



其中

X 是 I、Br、Cl、F 或-CN;

R_1 和 R_2 各自独立地是 H 或-OR₅;

R_3 是 H、-C(=O)(CH₂)_nCO₂H 或适宜的氨基酸;

R_4 是 H 或-OH;

R_3 是 H、 $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 或适宜的氨基酸；

n 是整数 2、3、4、5 或 6；

及其立体异构体、对映异构体和药学上可接受的盐；

其前提条件是当 R_3 不是 H 时 R_1 和 R_2 是 H；该组合物用于治疗自身免疫疾病。

41、权利要求 40 的组合物，其中所说的自身免疫疾病是类风湿性关节炎。

42、权利要求 40 的化合物，其中 R_1 是 H， R_2 是 H， R_3 是 H、 R_4 是 H 且 X 是 Cl。

43、权利要求 40 的化合物，其中 R_1 是 H， R_2 是 H， R_3 是 H、 R_4 是 H 且 X 是 Br。